گزارش کوتاه

مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره نوزدهم، شماره ۱۱، آبان ۱۳۹۶، صفحه ۸۱-۷۶

بررسی اثر باکتری کشی نانوذرات اکسید مس بر شیگلا سونئی و سالمونلا تیفی موریوم

سجاد بابایی (MSc)[۱]، فرشید باجلانی (MSc)[۱]، امید منصوری زواله (MSc)[۲]، اردشیر عباسی (MSc)[۳]، فرهاد عوبری (MSc)[۴*]

۱-گروه میکروب شناسی، گروه علوم و تحقیقات سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی سنندج
۲-گروه بیوشیمی، گروه علوم و تحقیقات سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی سنندج
۳-گروه ایمنی شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس
۴-مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

دریافت: ۹۶/۲/۲۳، اصلاح: ۹۶/۵/۲۴، پذیرش: ۹۶/۶/۳۰

خلاصه

سابقه و هدف: مقاومت میکروبی، ازجمله مهم‌ترین چالش‌ها در مقابله با بیماری‌های عفونی است. از این روی، یافتن و یا سنتز مواد ضدمیکروبی جدید بسیار حائز اهمیت است. اکسید مس (CuO) به دلیل اثر ضد باکتریایی خود در مقابله با مقاومت میکروبی مورد توجه است. در این مطالعه به منظور بررسی اثرات ضدباکتریایی نانوذرات اکسید مس بر روی باکتری‌هایشیگلاسونئی و سالمونلا تیفی موریوم که سویه‌های جدید آن‌ها با مقاومت میکروبی همراه شده‌اند، انجام گردید.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق بنیادی کاربردی، نانوذرات اکسید مس در اندازه‌های ۳۳ و ۵۶ نانومتر با استفاده از روش کاهش شیمیایی از سولفات مس سنتز شدند. سپس، اثرات ضد باکتریایی نانوذرات اکسید مس بر سوش استاندارد باکتری‌هایشیگلاسونئی (ATCC-۹۲۹۰) و سالمونلا تیمی موریوم (PTCC-۱۶۰۹) با استفاده از تکنیک های حداقل غلظت مهارکنندگی(MIC)، حداقل غلظت باکتری کشی(MBC) و سینتیک مرگ باکتری‌ها بررسی شد.

یافته‌ها: MIC به‌دست‌آمده در تیمار شیگلاسونئی وسالمونلا تیفی موریوم با نانوذره ۳۳ نانومتری به ترتیب برابر با ۲۵۰۰ mg/ml و ۵۰۰۰ mg/ml بود و همین ارقام برای نانوذره با اندازه ۵۶ نانومتری برای هر دو باکتری برابر با ۵۰۰۰ mg/ml بود. MBC به‌دست آمده نیز در تیمار شیگلا سونئی و سالمونلاتیفی موریوم با نانوذره ۳۳ نانومتری به ترتیب برابر با ۵۰۰۰≤ I.U/ml و ۱۰۰۰۰≤ I.U/ml بود و همین ارقام برای نانوذره با اندازه ۵۶ نانومتری برای هر دو باکتری برابر با ۱۰۰۰۰≤ I.U/ml بود.

نتیجه‌گیری: این تحقیق اثبات می‌کند که نانوذره اکسید مس بر روی باکتری‌های شیگلاسونئی و سالمونلا تیفی موریوم اثرات کشندگی دارد و اثرات کشندگی نانوذره کوچک‌تر قوی‌تر از نانوذره بزرگ‌تر بوده، در حالی‌که اثرات ضد باکتریایی بر روی شیگلاسونئی چشمگیرتر است.

واژه‌های کلیدی: نانوذره اکسید مس، شیگلاسونئی، سالمونلا تیفی موریوم، MIC، MBC، سینتیک مرگ باکتری.

مقدمه

باکتری‌های گرم منفی به‌طور فزآینده‌ای در حال مقاوم شدن نسبت به اغلب آنتی‌بیوتیک‌های در دسترس هستند. از جمله باکتری‌های گرم منفی که رو به مقاوم شدن گذاشته‌اند، می‌توان به باکتری‌های شیگلاسونئی و سالمونلا تیفی موریوم اشاره کرد. باکتری شیگلا، از خانواده انتروباکتریاسه بوده و یک عامل عفونت‌زای قوی است(۱). در پروسه درمان عفونت شیگلایی، مشکل مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌هایی همچون آمپی‌سیلین، تری متوپریم و تتراسایکلین وجود دارد(۲). باکتری سالمونلا نیز به خانواده انتروباکتریاسه تعلق دارد (۳). امروزه ظهور سالمونلا تیفی موریوم های مقاوم به چند دارو (Multiple Drug Resistant Salmonella Typhi =MDRST) یک تهدید جهانی محسوب می‌شود (۵و۴). بنابراین، یافتن و یا سنتز مواد ضدمیکروبی جدید برای تقابل با مشکل مقاومت آنتی‌بیوتیکی از اهمیت بسیاری برخوردار است. از همین روی، امروزه توجهات بسیاری معطوف به نانوذرات است که به واسطه خواص فیزیوشیمیایی خود، که ناشی از اندازه کوچک و سطح ویژه بالای آنهاست، اثرات ضدمیکروبی برجسته‌ای دارند. (۶). شرایط ویژه باکتری همانند دیواره سلولی، مسیرهای متابولیکی و یا شرایط فیزیولوژیکی پلانکتونیک، تأثیرگذاری نانوذرات بر روی باکتری هدف مؤثر هستند. نانوذرات به طورکلی با تأثیرگذاری مخرب بر بار غشاء سلول باکتری و یکپارچگی آن و تولید رادیکال‌های اکسیژن آزاد (ROS) باعث نابود شدن باکتری هدف می‌شوند (۷). نانوذارت اکسید مس(CuO) اخیراً به‌عنوان یک ماده ضد میکروبی مدنظر قرار گرفته‌اند. ویژگی‌های باکتری کشی نانوذرات، وابسته به اندازه آنها، پایداری و غلظت مورداستفاده به عنوان ماده ضد باکتریایی است. نانوذرات به‌شدت یونی اکسید مس، می‌توانند در مورفولوژی‌های کریستالی و با سطح ویژه بالا سنتز شوند (۹و۸). Ramyadevi و همکارانش، اثرات ضدمیکروبی نانوذره مس را بر روی باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیا کولی و کلبسیلا پونومونیه سنجیدند که نتایج آن‌ها حاکی از تأثیرات ضدمیکروبی نانوذره مس بود (۱۰). Akhavan و همکارانش اثرات نانوذره مس و اکسید مس که بر روی فیلم سیلیکا بارگذاری شده بود را گزارش کرده نازک و بیان داشتند که تأثیرات مهاری نانوذره مس بر باکتری اشریشیاکولی، قوی‌تر از نانوذره اکسید مس است (۱۱). هدف از انجام تحقیق حاضر نیز با توجه به مقاوم

*مسئول مقاله: فرهاد عوبری
آدرس: کرمانشاه، دانشگاه علوم پزشکی، مرکز تحقیقات بیولوژی پرشکی. تلفن: ۰۸۳-۳۴۲۴۳۴۵۲
E-mail:farhadobari@yahoo.com

شدن باکتری‌های گرم منفی و چالش‌های ناشی از آن، بررسی اثرات ضد باکتریایی نانوذره اکسید مس به عنوان یک ماده آنتی باکتریال جدید در دو اندازه مختلف و وابسته به غلظت‌های مختلف بر روی دو باکتری گرم منفی شیگلاسونئی و سالمونلا تیفی موریوم است.

مواد و روش‌ها

مواد و سوش ها باکتری‌های مورد بررسی: این مطالعه از نوع بنیادی-کاربردی و پس از تصویب در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه انجام پذیرفت. در این مطالعه از سوش باکتری شیگلاسونئی(ATCC ۹۲۹۰) و سالمونلا تیفی موریوم (PTCC ۱۶۰۹) و محیط‌های کشت، مولر هینتون آگار، نوترینت براث، BHI، تریپتون سوی براث ،آب پپتونه (پپتون واتر)و آگار مغزی استفاده شد. تمام محیط‌های کشت از کمپانی مرک(Merk) تهیه شدند.

سنتز و بررسی خصوصیات نانوذره اکسید مس

سنتز نانوذره اکسید مس: برای تهیه محلول آبی کلوئید مس، از روش شیمیایی احیای تک‌مرحله‌ای Han و همکارانش استفاده شد (۱۲). در این روش از gr ۰/۲۵ سولفات مس ۵ آبه ($CuSO_4.5H_2O$) محلول در ml ۱۰۰ آب مقطر و gr ۵ گرم پلی وینیل پیرولیدون (PVP-K30)(Merck-Germany)و نیز از gr ۰/۲۵ $NaBH_4$ برای احیای اکسید مس استفاده شد. مقادیر مختلف اسکوربیک اسید به‌منظور تهیه اکسید مس با اندازه‌های مختلف استفاده شد.

بررسی خصوصیات نانوذره: برای بررسی اندازه و مورفولوژی نانوذرات اکسید مس به ترتیب از دستگاه زتا سایزر (Malvern zeta sizer nano -۲۵) و میکروسکوپالکترونی (SEM) (MIRA3 - TESCAN) استفاده شد.

آزمایش‌های تعیین حساسیت ضدمیکروبی نانوذره اکسید مس

آزمون انتشار دیسک: برای انجام این آزمون، کشت ۲۴ ساعته از باکتری‌های شیگلاسونئی و سالمونلا تیفی موریوم در محیط BHI (Merck-Germany) تهیه گردید. سپس کدورت کشت باکتری‌ها با استفاده از روش استاندارد ۰/۵ مک فارلند (بهارافشان-ایران) به‌صورت چشمی و با استفاده از اسپکتروفتومتر تنظیم شد. سوش باکتری‌ها به‌صورت جداگانه با استفاده از سواب سترون روی مولرین هینتون آگار (Merck-Germany) کشت داده شد و از هر دو نانوذره به مقدار۲۰µl روی دیسک‌های استاندارد (پادتن- ایران) سترون بارگذاری شد. برای شاهد نیز از دیسک‌های سترون (پادتن- ایران) لود نشده استفاده شد. پس از انکوباسیون قطر هاله عدم رشد اندازه گیری شد.

آزمون انتشار در چاهک آگار: برای انجام این آزمون، سوسپانسیون باکتریایی با غلظت ۰/۵ مک فارلند تهیه شد. سپس نمونه باکتری بر روی مولرین هینتون آگار کشت داده شده و با استفاده از پانچ استریل در داخل پلیت، چاهک ایجاد شد. هر چاهک با ۱۰mg/ml از هر دو نمونه نانوذره به‌طور جداگانه بر روی پلیت های جداگانه تلقیح شد و چاهک حاوی حلال DMSO (Merck-Germany) به‌عنوان شاهد تهیه شد. پس از انکوباسیون، قطر هاله عدم رشد اندازه گیری شد.

آزمایش تعیین MIC و MBC: برای تعیین MIC و MBC از روش Broth Microdilution MIC Testing استفاده شد. در این روش از میکروپلیت های ۹۶ خانه‌ای (SPL-South Korea) با توجه به روش Raeisi و همکارانش استفاده شد (۱۳). هر دو باکتری شیگلاسونئی و سالمونلا تیفی موریوم به‌صورت جداگانه در محیط BHI مایع (Merck-Germany) کشت داده‌شده و انکوبه شدند. غلظت‌های مختلف نانوذره اکسید مس با استفاده از محیط تریپتون سوی براث (Merck-Germany) تهیه شد. غلظت ۰/۵ مک فارلند از سوسپانسیون باکتری تهیه شد. در ادامه از رقیق‌سازی به‌وسیله محیط پپتون واتر (Merck-Germany) استفاده شد ورقت‌های ۲ تا ۷ برابر رقت از محلول‌های اصلی نانوذره اکسید مس در لوله‌های حاوی BHI تهیه شد. سپس به میزان ۱۶۰µl از BHI، ۲۰ml از غلظت‌های تهیه‌شده نانوذرات اکسید مس و ۲۰ml از تلقیح باکتریایی برای هر نانوذره و هر باکتری به‌صورت جداگانه به چاهک‌های میکروپلیت افزوده شد. برای کنترل مثبت ۲۰۰µl از محیط BHI و نانوذرات و برای کنترل منفی ۱۸۰µl از محیط BHI همراه با ۲۰µl از تلقیح باکتریایی به چاهک‌ها افزوده شد. پس از انکوباسیون، اولین چاهک شفاف MIC و دومین چاهک شفاف MBC در نظر گرفته شدند.

بررسی سینتیک مرگ باکتری در محیط براث: برای انجام این تست، در چهار لوله‌آزمایش، ml ۸ میلی‌لیتر محیط BHI مایع ریخته شد و ml ۱ از کشت ۱۸ ساعته باکتری‌ها به محیط BHI مایع تلقیح شد. سپس با افزودن ml۱ از محلول نانوذره اکسید مس (هرکدام از اندازه‌هابه‌صورت جداگانه) به لوله‌ها، رقت‌های ۰/۱ و ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ تهیه شد. به لوله چهارم به‌عنوان کنترل، سرم فیزیولوژی اضافه شد. سپس محیط‌ها در°C ۳۷ با دور rpm ۱۵۰ انکوبه گردیدند و در فواصل زمانی صفر، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ دقیقه از هرکدام از غلظت‌های مورد نظر در زمان‌های مشخص شده رقت سازی انجام‌گرفته و در پلیت های حاوی محیط کشت BHI آگار کشت داده شد. در ادامه پلیت های انکوبه شدند و بعد از انکوباسیون تعداد باکتری‌های زنده مانده با استفاده از کلونی کانتر شمارش گردید.

آزمون‌های آماری: جهت آنالیز آماری نتایج از آزمون‌های واریانس یک‌طرفه و دوطرفه و از آزمون تکمیلی scheffe استفاده شد و $p<۰/۰۵$ معنی دار درنظر گرفته شد.

یافته‌ها

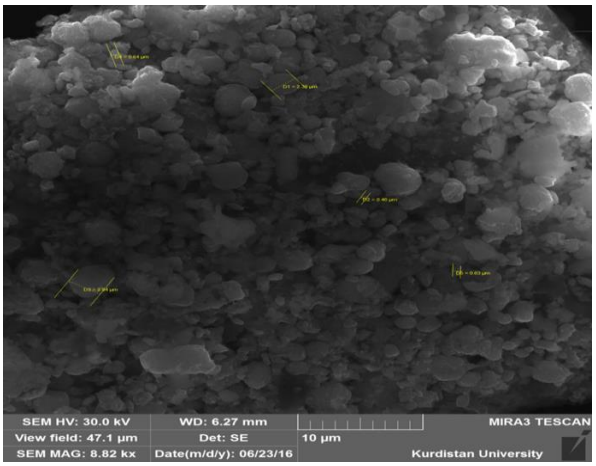
بررسی اندازه و مورفولوژی نانوذرات اکسید مس: در بررسی اندازه نانوذرات سنتز شده اکسید مس به‌وسیله دستگاه زتا سایزر نشان داد که نانوذرات اکسید مس با دو اندازه تقریبی nm ۳۳ و nm ۵۶ سنتز شده‌اند (شکل ۱). بررسی‌های میکروسکوپ SEM گویای مورفولوژی ذره‌ای این نانوذرات بود (شکل ۱AوB).

نتایج آزمون انتشار دیسک و آزمون انتشار چاهک: داده‌های به‌دست آمده گویای این هستند که نانوذره با اندازه کوچک‌تر (۳۳ nm) اثرات مهارکنندگی بیشتری بر روی هر دو باکتری مورد تحقیق نسبت به نانوذره با اندازه بزرگ‌تر (۵۶ nm) دارد و همچنین اثرات ضد باکتریایی نانوذره اکسید مس بر شیگلاسونئی، بیشتر از تأثیر بر سالمونلاتیفی موریوم بود (جدول۱).

نتایج آزمون MIC و MBC نانوذرات اکسید مس: داده‌های به‌دست‌آمده در تعیین MIC و MBC نشان می‌دهند که نانوذره اکسید مس دارای اثرات ضد باکتریایی قابل‌توجه بر روی باکتری‌های شیگلاسونئی و سالمونلا تیفی موریوم است. نتایج آزمون نشان می‌دهند که تأثیر مهاری نانوذره ۳۳nm بر باکتری شیگلاسونئی بیشتر از سالمونلا تیفی موریوم است (جدول۲).

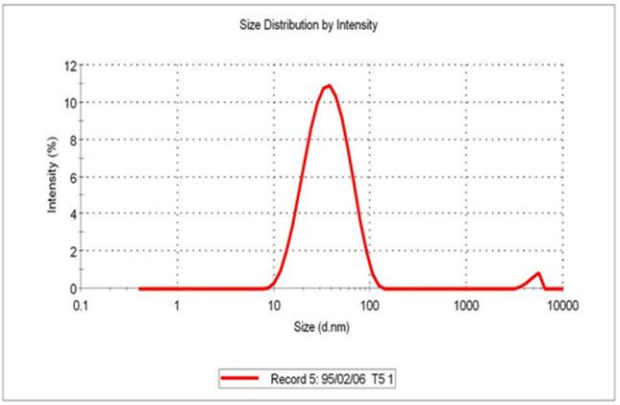
نتایج آزمون سینتیک مرگ باکتری: در تیمار باکتری شیگلاسونئی در رقت ۰/۱ بیشترین اثر مهاری و در ۰/۰۰۱ کمترین اثر مهاری نانوذره ۳۳nm مشاهده می‌شود (نمودار ۱ A) و در تیمار با نانوذره ۵۶nm، در رقت ۰/۱ بیشترین اثر

مهاریودررقت ۰/۰۰۱ کمترین اثر مهاری دیده می‌شود (نمودار ۱ B). در تیمار باکتری سالمونلا تیفی موریوم با نانوذره ۳۳nm، در رقت ۰/۱ بیشترین اثر مهاری و در ۰/۰۰۱ کمترین اثر مهاری مشاهده می‌شود (نمودار۲ A) و در تیمار با نانوذره ۵۶nm، مشخص شد که اثر مهاری رشد در رقت ۰/۱ از نانوذره، دارای اثر چشمگیرتر خاصیت ضدباکتریایی نسبت به تیمارهای دیگر است (نمودار۲ B).



شکل ۱A. مورفولوژی نانوذره ۳۳nm اکسید مس با میکروسکوپ SEM

		Diam. (nm)	% Intensity	Width (nm)
Z-Average (d.nm): 33.35	Peak 1:	39.63	98.1	19.41
PdI: 0.236	Peak 2:	4977	1.9	620.0
Intercept: 0.946	Peak 3:	0.000	0.0	0.000
Result quality : Good				



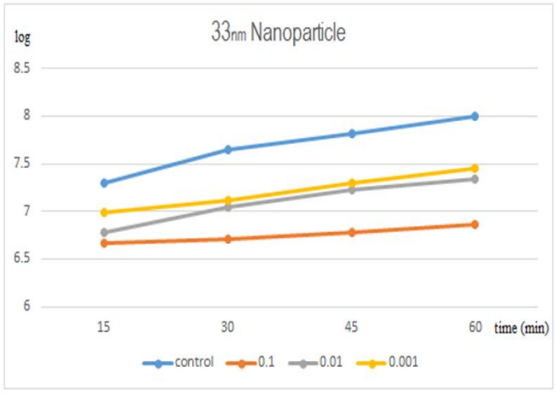
شکل ۱B. تعیین اندازه نانوذره ۳۳nm با دستگاه زتاسایزر

جدول۱. نتایج آزمون‌های انتشار دیسک و چاهک در تیمار باکتری‌های شیگلاسونئی و سالمونلاتیفی موریوم با دو اندازه مختلف از نانوذرات اکسید مس

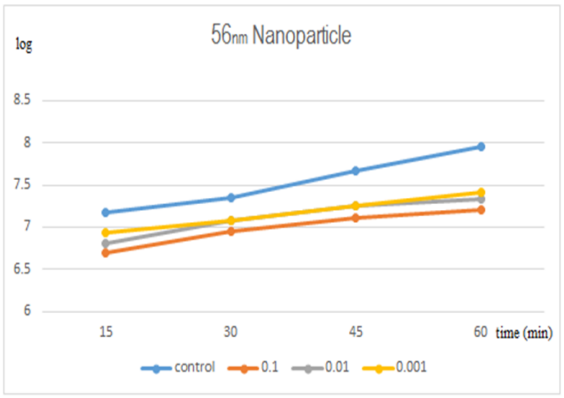
باکتری	اندازه نانوذرات	انتشار دیسک	انتشار چاهک	کنترل منفی در هر دو آزمون
شیگلاسونئی	۳۳ nm	۲۵±۲mm	۳۱/۵±۱/۵ mm	۰
	۵۶ nm	۱۷±۲/۵mm	۲۳±۱/۵ mm	۰
سالمونلا تیفی	۳۳ nm	۱۸±۲ mm	۲۶±۲ mm	۰
	۵۶ nm	۱۵±۲ mm	۲۲±۲ mm	۰

جدول ۲. نتایج MIC و MBC شیگلاسونئی و سالمونلا تیفی موریوم در تیمار با دو اندازه از نانوذره اکسید مس

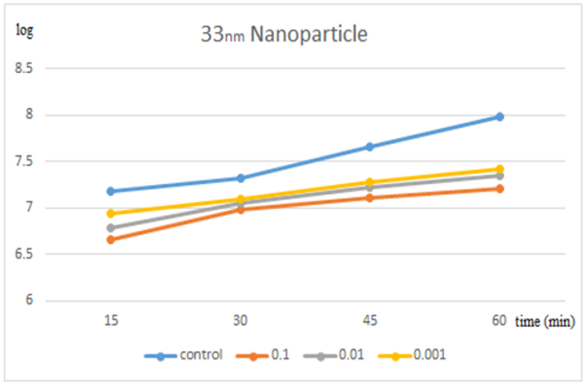
باکتری	۳۳ nm	۵۶ nm
شیگلاسونئی	۲۵۰۰ mg/ml ≥۵۰۰۰ I.U/ml	۵۰۰۰ mg/ml ≥۱۰۰۰۰ I.U/ml
سالمونلا تیفی	۵۰۰۰ mg/ml ≥۱۰۰۰۰ I.U/ml	۵۰۰۰ mg/ml ≥۱۰۰۰۰ I.U/ml



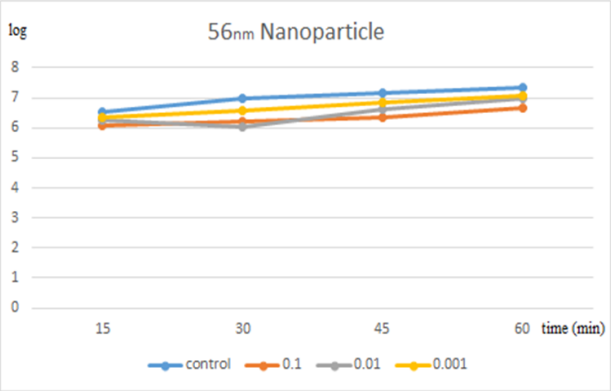
نمودار A۱. نمودار سینتیک مرگ باکتری شیگلاسونئی نسبت به تیمار با نانوذرات۳۳nm برحسب زمان



نمودار B۱. نمودار سینتیک مرگ باکتری شیگلاسونئی نسبت به تیمار با نانوذرات ۵۶nm برحسب زمان



نمودار A۲. نمودار سینتیک مرگ باکتری سالمونلا تیفی موریوم نسبت به تیمار با نانوذرات ۳۳nm برحسب زمان



نمودار۲ B. نمودار سینتیک مرگ باکتری سالمونلا تیفی موریوم نسبت به تیمار با نانوذرات ۵۶nm برحسب زمان

تحلیل‌های آماری در مورد اثرات نانوذرات اکسید مس بر روی باکتری های شیگلاسونئی و سالمونلا تیفی موریوم گویای آن بودند که تفاوت معنی‌داری بین لگاریتم تعداد باکتری‌ها در زمان‌های مختلف و نیز در بین نانوذرات با اندازه‌های مختلف با گروه کنترل وجود دارد. همچنین تفاوت معنی‌داری بین اثر نانوذرات ۳۳nm و ۵۶nm وجود داشت (p=۰/۰۰۰).

بحث و نتیجه گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که از نانوذره اکسید مس، می‌توان در غلبه بر باکتری‌های گرم منفی شیگلاسونئی و سالمونلا تیفی موریوم استفاده کرد. اثرات ضدمیکروبی این نانوذرات وابسته به خواص فیزیکی و شیمیایی و عملکردی آن‌ها است (۱۴).به نظر می‌رسد که فاکتورهای کلیدی در اثرگذاری نانوذرات اکسید مس بر روی باکتری شامل اندازه، حلالیت، مدت زمان تیمار و ساختار نانوذره هستند و معمولاً مکانیسم‌های اثرگذاری مخرب آن شامل استرس‌های اکسیداتیو تأثیرات کوردیناسیون، تأثیرات غیر هموستازی و ژنو توکسیسیتی است (۱۵). در مطالعه حاضر نیز مشابه با دیگر مطالعات که گویای تأثیرگذاری نانوذرات اکسید مس بر باکتری‌ها بود نشان داده شد که نانوذرات اکسید مس دارای خاصیت ضد باکتریایی چشمگیری هستند(۱۶). ازآنجاییکه نانوذرات در اندازه‌های کوچک‌تر اثرات ضد باکتریایی قوی‌تری از خود نشان می‌دهند (۶). در مطالعه حاضر سعی برنشان دادن تفاوت در اثرات ضد باکتریایی دو اندازه مختلف از نانوذره اکسید مس شد. نتایج نشان دادند که نانوذره کوچک‌تر (۳۳nm) اثرات کشندگی بیشتری در غلظت و زمان مشخص نسبت به نانوذره بزرگ‌تر (۵۶nm) دارد. ازجمله دلایل این موضوع می‌توان به این مورداشاره کرد که نانوذرات کوچک‌تر لبه‌ها و گوشه‌های در معرض تری برای آزادسازی یون‌های خود دارند که این یون‌ها به نوبه خود اثرات کشندگی بیشتر را ایجاد می‌کنند.

افزون بر آن، اثرات ضدمیکروبی نانوذره بر باکتری شیگلاسونئی چشمگیرتر است و همچنین نتایج ثابت می‌کنند که علاوه بر اندازه نانوذرات اکسید مس، غلظت مورداستفاده از آنها در مجاورت با باکتری‌های موردتحقیق در میزان کشندگی این نانوذرات فاکتورهای طلایی محسوب می‌شوند. از طرفی آزاد شدن یون‌های Cu^{2+} در محیط کشت نوترینت به سهولت انجام می‌پذیرد (۸) که در مورد مطالعه اثرات ضد باکتریایی نانوذرات اکسید مس همانند مطالعه حاضر، آزادسازی تسهیل شده Cu^{2+} در محیط نوترینت می‌تواند بر اثرات باکتری کشی آن مؤثر بوده باشد. یک مزیت مهم در استفاده از نانوذرات مس در غلبه بر باکتری‌های مقاوم به دارو در این است که مقاوم شدن باکتری‌ها به این نوع مواد، از احتمال بسیار کمی برخوردار است.

چرا که مکانیسم ضد باکتریایی نانوذرات چند عملکردی بوده و به طور هم‌زمان دیواره سلولی، سیستم تنفس سلولی، مکانیسم ژنومی و فرآیند پروتئین‌سازی را هدف قرار می‌دهد. در واقع باکتری فرصت زمانی، پتانسیل ترمیم و امکان دست یافتن به رهیافت برای بقاء را نخواهد داشت. با توجه به سنتز کم‌هزینه و اثرات ضد باکتریایی قابل‌توجه نانوذرات اکسید مس به نظر می‌رسد که توسعه و استفاده از این نانوذرات در اندازه‌های کوچک‌تر و یا بارگذاری شده بر روی سطوح به عنوان عامل ضدمیکروبی در مقابله با سویه‌های مقاوم باکتریایی در گندزدایی اماکن درمانی و یا نظامی می‌تواند هدفی مناسب باشد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه به سبب در اختیار نهادن امکانات آزمایشگاهی و همچنین از شرکت آرشاطب (سینا تشخیص) به دلیل تأمین مواد آزمایشگاهی تحقیق، تشکر و قدردانی می گردد.

A Study of the Bactericidal Effect of Copper Oxide Nanoparticles on *Shigella Sonnei* and *Salmonella Typhimurium*

S. Babaei (MSc)[1], F. Bajelani (MSc)[1], O. Mansourizaveleh (MSc)[2], A. Abbasi(MSc)[3], F. Oubari (MSc)*[4]

1.Department of Microbiology, Department of Science and Research Sanandaj, Sanandaj Islamic Azad University, Sanandaj, I.R.Iran.
2.Department of Biochemistry, Department of Science and Research Sanandaj, Sanandaj Islamic Azad University, Sanandaj, I.R.Iran.
3.Department of Immunology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, I.R.Iran.
4.Medical Biology Research Center, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, I.R.Iran.

J Babol Univ Med Sci; 19(11); Nov 2017; PP: 76-81
Received: May 13th 2017, Revised: Aug 15th 2017, Accepted: Sep 21th 2017.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Microbial resistance is one of the most important challenges in dealing with infectious diseases. Therefore, finding or synthesizing new antimicrobial agents is very important. Copper oxide (CuO) is considered for its antibacterial effect against microbial resistance. This study was conducted to investigate the antibacterial effects of copper oxide nanoparticles on *shigella sonnei* and *salmonella typhimurium* bacteria, which have new strains associated with microbial resistance.

METHODS: In this applied fundamental research, copper oxide nanoparticles were synthesized from copper sulfate in sizes of 33 and 56 nm, using a chemical reduction method. Then, the antibacterial effects of copper oxide nanoparticles on the standard strain of *shigella sonnei* (ATCC–9290) and *salmonella typhimurium* (PTCC–1609) were investigated using minimum inhibitory concentration (MIC), minimum bactericidal concentration (MBC) and bacterial death kinetics.

FINDINGS: The MIC obtained in *shigella sonnei and salmonella typhimurium* treatment with a 33 nm nanoparticle were 2500mg/ml and 5000 mg/ml, respectively, and the value for 56 nm nanoparticle for both bacteria was 5,000mg/ml. The obtained MBC in the treatment of *shigella sonnei* and *salmonella typhimurium* using 33 nm nanoparticle was 5000≤IU/ml and 10,000≤IU/ml, respectively, and the same for 56 nm nanoparticle for both bacteria was equal to 10,000≤IU/ml.

CONCLUSION: The research proves that copper oxide nanoparticles have a bactericidal effect on *shigella sonnei* and *salmonella typhimurium*, and that the bactericidal effect of smaller nanoparticles is greater than that of bigger nanoparticles, while the antibacterial effects on *shigella sonnei* was more significant.

KEY WORDS: *Copper Oxide Nanoparticle, Shigella Sonnei, Salmonella Typhimurium, MIC, MBC, Bacterial Death Kinetics.*

Please cite this article as follows:

Babaei S, Bajelani F, Mansourizaveleh O, Abbasi A, Oubari F. A Study of the Bactericidal Effect of Copper Oxide Nanoparticles on Shigella Sonnei and Salmonella Typhimurium. J Babol Univ Med Sci; 2017;19(11):76-81.

* **Corresponding author: F. Oubari (MSc)**
Address: Medical Biology Research Center, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, I.R.Iran.
Tel:+98 83 34243452
E-mail: farhadobari@yahoo.com

References

1.Schroeder G.N, Hilbi H. Molecular pathogenesis of shigellaspp: controlling host cell signaling, invasion, and death by type III secretion. Clin Microbiol Rew. 2008;21(1):134-56.

2.McIver Ch, White P, Jones L, Karagiannis T, Harkness J, Marriott D, Rawlinson W. Epidemic strains of shigellasonnei biotype g carrying integrons. J Clin Microbiol. 2002;40(4):1538-40.

3.Andino A, Hanning I. Salmonella enterica: survival, colonization, and virulencedifferences among serovars. Sci World J. 2015.

4.Ugboko H, De N. Mechanisms of antibiotic resistance in salmonella typhi. Int J Curr Microbiol App Sci. 2014;3(12):461-76.

5.Cavallaro E, Medus C, Kim C, Phan Q, Adams J, GernerSmidt P,et al. Salmonella typhimurium infections associated with peanut products. N Engl J Med. 2011;365:601-10.

6.Hosseinkhani P, Zand AM, Imani S, Rezayi M, RezaeiZarchi S. Determining the antibacterial effect of ZnO nanoparticle against the pathogenic bacterium Shigelladysenteriae (type 1). Int J Nano Dim. 2011;1(4):279-85.

7.Beyth N, Houri-Haddad Y, Domb A, Khan W, Hazan R. Alternative antimicrobial approach:nano-antimicrobial materials. Evid-Based Complement Alternat Med. 2015;2015.

8.Shaffiey SF, Shapoori M, Bozorgnia A, Ahmadi M. Synthesis and evaluation of bactericidal properties of CuO nanoparticles against Aeromonashydrophila. Nanomed J. 2014;1(3):198-204.

9.Ren G, Hu D, Cheng E, Vargas-Reus M, Reip P, Allaker R. Characterisation of copper oxide nanoparticles for antimicrobial applications. Int J Antimicrob Agents. 2009;33(6):587-90.

10.Ramyadevi J, Jeyasubramanian K, Marikani A, Rajakumar G, AbdulRahuman A. Synthesis and antimicrobial activity of copper nanoparticles. Mater Lett. 2012;71(15):114-6.

11.Akhavan O, Ghaderi E. Cu and CuO nanoparticles immobilized by silica thin films as antibacterial materials and photocatalysts. Sur Coat Technol. 2010;219-23.

12.Han T, Song ZR, He JH, Li S. Influence of ascorbic acid on the stabilization of the copper suspension colloids. Optoelectron Adv Mater 2014;2:180-3.

13.Raeisi M, Tajik H, RazaviRohani SM, Tepe B, Kiani H, Khoshbakht R, ShirzadAski H, Tadrisi H. Inhibitory effect of Zataria multiflora Boiss. essential oil, alone and in combination with monolaurin, on Listeria monocytogenes. Veter Res Forum. 2016;7(1):7-11.

14.Yah CS, Simate GS. Nanoparticles as potential new generation broad spectrum antimicrobial agents. DARU J Pharma Sci. 2015;23:43.

15.Chang Y, Zhang M , Xia L , Zhang J , Xing G. The toxic effects and mechanisms of cuo and zno nanoparticles. Materials 2012;(5):2850-71.

16.Ahamed M, Alhadlaq HA, Khan MA, Karuppiah P, Al-Dhabi NA. Synthesis, characterization, and antimicrobial activity of copper oxide nanoparticles. J Nanomater. 2014.